

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. дбн Искра Витанова Иванова,

Софийски университет „Св. Кл. Охридски”, Биологически факултет

на дисертационен труд на тема: „Микрофлора на храносмилателния тракт на охлюви от сем. *Helicidae*”,

Автор на дисертационния труд: Здравка Веселинова Колева

Научни ръководители: проф. д-р Пенка Мончева, доц. д-р Петя Христова

1. Актуалност и значимост на дисертационната тема

В последните десетилетия консумацията на охлюви се увеличава в Европа. Тяхното стопанско значение и разрастващото им се разпространение като здравословна храна изисква задълбочено познаване на състава и развитието на интестиналната микробиота. От друга страна изследванията в областта на микрофлората на охлювите е от ключово значение за тяхното широко използване в сфери като фармация, козметика, медицина и други.

2. Оценка на структурата на дисертационния труд

Дисертационният труд е конструиран в традиционна форма със следните раздели. Дисертационният труд обхваща 180 страници стандартен компютърен текст с 36 фигури и 22 таблици. Той е структуриран по стандартния начин: Увод – 2 стр., Литературен обзор – 45 стр., Материали и методи – 15 стр., Резултати и изводи - 81 стр., Списък на цитираната литература – 314 автора. Необходимо е да се отбележи, че представената литературна справка е един задълбочен анализ на състоянието на проблема и дисертантката го познава изключително добре.

2.1. Литературен обзор

Смятам, че литературният обзор е правилно структуриран и има пряко отношение към целите на дисертацията и поставените задачи. Обзорът на дисертационния труд засяга интересни и важни аспекти от съвременната микробиология. Той може условно да бъде разделен на три части. Първата част съдържа информация за биологията на охлювите като функционална храна и нейната биохимична характеристика и значението на охлювите и доказаният през вековете здравословен и лечебен ефект за хората. Втората част на обзора е фокусирана върху характеристиката на интестиналната микробиота на охлювите. Авторката подробно разглежда тази сложна екосистема и получените знания използва в разработката на дисертационния труд. Бих искала да отбележа отлично представеното описание на биологията на основните грам отрицателни и грам положителни бактерии в чревния тракт на охлювите. Третият раздел от литературния обзор предлага на читателя съвременните методи за идентификация на микроорганизмите.

2.2. Цел и задачи

Дисертационният труд на Здравка Веселинова Колева е посветен на изучаването на динамиката и разнообразието на микробиотата на интестиналния тракт на *C. aspersum*. Познаването на видовия състав е важно както за крайните консуматори, така и при отглеждането на охлювите във ферми, рисковете от заболявания за консуматорите и е свързано с възможно бъдещо приложение в биотехнологията. Ето защо целта е ясна, добре формулирана, актуална и получените резултати биха имали важно значение за практиката. За реализирането на една такава работа докторантката формулира задачи, които включват всички задължителни етапи с едно изключително подробно проучване.

2.3. Материали и методи

Това е една важна част от дисертационния труд, която показва нивото на научните изследвания. Представени са съвременни микробиологични, молекулно-аналитични, молекулярно-генетични, така че самото им овладяване и успешно прилагане е вече един безспорен успех. Заслужава да се подчертаят методите изолиране на ДНК и плазмидна ДНК, PCR-амплификация на ITS фрагментите на 16S-23 рДНК, PCR амплификация с родовоспецифични праймери PCR амплификация на 16S ARDRA анализ, секвениране, метагеномен анализ, конструиране на клонови библиотеки и идентификация на коректни

клонове и рестрикционен анализ на клоновата библиотека. Методите са описани прецизно, без подробности, но достатъчно пълно, за да бъдат възпроизведени.

2.4. Резултати и обсъждане

Смятам, че получените резултати са убедителни и тяхната достоверност не подлежи на съмнение. Следвайки логичната последователност на поставените задачи, авторката:

1. Разработва схема, включваща PCR амплификация на 16S-23S ITS рДНК, рестрикционен анализ на ITS-23S рДНК и 16S рДНК, видово-специфичен и мултиплекс PCR, както и секвенционен анализ. Тази схема е достатъчно информативна за идентифициране и диференциране на градинските охлюви.
2. Установява, че микробиотата в интестиналния тракт на *C. aspersum* се повлиява от сезоните и е в съответствие с установения състав.
3. Изследва грам-отрицателни бактерии, които се отнасят към три типа: Proteobacteria, Bacteroidetes и Fusobacteria. Към типа Proteobacteria са отнесени два класа. В първия клас γ -Proteobacteria се включват представители на три семейства. Интересно е да се отбележи, че представители на семейството Moraxellaceae се изолират за първи път от интестиналния тракт на *C. aspersum*.
4. Изследва Грам-положителните бактерии в храносмилателния тракт и за първи път изолира видове от родовете *Lactobacillus*, *Vagococcus*, *Weissella*, *Rhodococcus*.
5. Прилага метагеномен анализ, който разкрива разлики в качествения състав на микробиотата на новоизлюпени охлюви и активно хранещи се.

2.5. Изводи и приноси

Въз основа на огромната експериментална работа дисертантката прави 7 извода, които произтичат логично от получените резултати. В дисертационният труд са отразени 5 приноси с научен и научно-приложен характер, които приемам.

3. Участие на докторанта в изработването на дисертацията

Имам лични впечатления от докторантката и считам, че изпълнението на дисертационния труд е нейно дело, както и предвид нейната позиция в излезлите от печат публикации, свързани с дисертационния труд.

4. Препоръки, забележки и въпроси

Направените препоръки на вътрешната защита са взети под внимание от докторантката.

Към докторантката имам следните въпроси:

1. Имат ли охлювите автохтонна микробиота?
2. Може ли да се предположи, че метагеномният анализ ще даде реално диагностициране на разнообразието на микробиотата в храносмилателния тракт на охлювите?

5. Публикации във връзка с дисертационния труд

Докторантката е представила списък с три научни публикации, свързани с дисертацията. На две от публикациите дисертантът е водещ автор, което означава, че има важно участие в изработването на дисертационния труд. Резултатите от дисертацията са докладвани на три научни форума под формата на постерни съобщения. Представени са и две участия в научни проекти, единият конкретно свързан с темата на дисертацията, а другият методично.

6. Придобита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен „доктор“

В хода на изпълнението на експерименталната работа и оформянето на дисертационния труд докторантката Здравка Веселинова Колева е придобила компетенции и умения, които могат да бъдат групирани по следния начин:

- разширила е теоретичната си компетентност в областта на микробиологията
- придобила е умения за работа с научна литература, анализирайки и обобщавайки научна информация.
- обогатила е методичните си умения, особено в частта на прилагането на

молекулни методи

- придобила е умения самостоятелно да оформя и дискутира резултатите, получени в хода на разработването на дисертацията, както и да прави изводи на базата на тях.

Всичко това ми дава основание да смятам, че докторантката е придобила компетенциите и уменията, които се изискват за придобиване на образователната инаучна степен „доктор”.

7. Заключение

Представеният дисертационен труд е едно завършено изследване, което предоставя ценна научна информация и разкрива възможности за практическо приложение. Много добрата теоретична подготовка е дала възможност на докторантката да подбере и съчетае набор от класически съвременни микробиологични, молекулярно-биологични и аналитични методи, които осигуряват изпълнение на поставените задачи и постигането на целта. Смятам, че обемът на този труд е внушителен, направени са много анализи, получени са ценни резултати, направени са важни изводи, а изследването има и научно-приложни приноси. Авторефератът е направен по изискванията и отразява вярно основните резултати и изводи на дисертационния труд.

Въз основа на гореизложеното, както и предвид Правилника за приложение на Закона за развитие на академичния състав в Република България и този на Софийския Университет „Св.Кимент Охридски” считам, че настоящият труд отговаря на изискванията за докторска дисертация, оценявам го положително и препоръчвам на Научното жури, сформирано със заповед на Ректора на СУ No **РД38-88/03.02.2015** г да присъди на Здравка Веселинова Колева образователната и научна степен „доктор” по Професионално направление 4.3 Биологически науки, Научна специалност: Микробиология.

5.03.2015 г.

Рецензент:

София

(проф. дбн И. Иванова)